

# SM, PAS, INH 耐性上限の個人差および routine 法耐性検査による完全耐性度の誤差について

東 村 道 雄

国立療養所大府荘 (庄長 勝沼六郎博士)

受付 昭和 35 年 6 月 17 日

## 緒 言

薬剤耐性度の表し方：結核菌の耐性度を表現するには種々の方法がある。たとえば、現行 routine 法による「完全耐性度」とは対照と同程度に発育が認められる最高薬剤濃度であり、「不完全耐性度」とはともかく菌の発育がみられる最高濃度である。しかし、このような「完全耐性度」はかなり主観の影響を受けることはいまでもない。また検査に用いる接種生菌数によってもかなり影響される<sup>1)~4)</sup>。したがって、接種菌量を一定化しないかぎり、観察された耐性度の動揺が(a)接種生菌数の動揺によるものか、(b)または真の耐性度の動揺によるものかは区別しがたい。したがって、接種生菌数の影響を除外した場合に起こる「真の耐性度」の動揺はどれほどあるものかを知る必要がある。しかし現在までのところ、定量的方法で耐性度の動揺を長期間にわたって観察した文献はない。本報の目的の 1 つはこれを明らかにすることである。

結核菌の耐性度を明らかにする方法として理想的な方法は、被検耐性菌集団の population 構成をもつて表現することである<sup>1)</sup>。しかし、この方法は、方法自体としては理想的であるが、実際に臨床目的に適用するにあたっては記載法があまりに複雑であつて実用的でない。そこで次善の策として population 構成検査の結果を簡単に表現することが望まれる。著者は臨床的にみられる薬剤効果の著明な低下には、喀痰中の大部分を占める菌の耐性度が関与しているという考えから、population の大部分を占める菌の耐性度で表現することを提唱した<sup>5)</sup>。もちろんこの方法が最善であるとは決して考えていないが、一応実用上比較的妥当な基準ではないかと考える次第である。それでは、ここにいう耐性度は routine 法でいう完全耐性度とどう違うか次に説明を加える。

「真の完全耐性度」と「routine 法の完全耐性度」との違い：routine 法の完全耐性度は先に述べたように、判定にかなり主観が入るものであり、かつ接種生菌数の大小によつて動揺を免かれがたいものである<sup>1)~4)</sup>。それに対して、ここにいう「真の完全耐性度」とは事実ほとんど全部の結核菌が発育しうる(集落形成可能の)最高濃度であつて、実際に集落計算により確かめえた値であ

る。したがって接種生菌数とは関係がない。実際の測定は、対照培地で 20~100 集落を生じる接種菌量を用いて、対照とほぼ同数の集落を作りうる最高薬剤濃度として測定する。このような方法では、判定に主観が入る余地はないし、また接種生菌数の影響も除外される(集落算定の基盤に立つから)、また菌と菌の干渉現象<sup>6)</sup>によつて発育が影響されることもない。なお集落数はできれば 50 前後に一定化するのが理想であるが<sup>7)</sup>、これは実行困難であるので、上記のごとく 20~100 (場合により 10~150) を用いることにした。

本報の目的は、(a) 上記のいわゆる「真の完全耐性度」と「routine 法の完全耐性度」とのくい違いは如何ほどあるものか、(b) 接種生菌数の影響を除外した「真の完全耐性度」でみる場合、耐性患者の耐性度動揺はどの程度に起こるものか、(c) 「真の完全耐性度」からみて、臨床的に起こりうる耐性の上限はどの程度のものか、またこの上限が薬剤または個人により異なつた型をもつかどうかの 3 点について検討することである。

## 実験材料および方法

国立療養所大府荘では、昭和 30 年から一部の患者について隔月に、昭和 32 年からは約 100 名の患者について 2 カ月おきに population 構成を調べてきたが、本報では昭和 33 年以降一部の患者について毎月行つた検査結果から 6 例を例として報告する。多数例についての統計的観察は別の機会に報告したい。

いわゆる「真の完全耐性度」の測定法

検査には全日痰を用い、検査前夜から当日にかけて化学療法を中止して採痰した。全日痰に等量の 5% KOH を加えて 15 分間パンピングして均一化し、これを生理食塩水で 100 倍および 1,000 倍に稀釈した。原液とこの 2 つの稀釈液のおのおのから、0.02 ml を渦巻白金耳で次の培地に接種し、ただちにゴム栓をして 37°C に 6 週培養した。培地は 1% 小川培地を用い、17~18×170 mm の中試験管に 8 ml 分注し、90°C 60 分滅菌して斜面とした。薬剤濃度は、SM 10, 100, 1,000  $\gamma$ /ml (dihydrostreptomycin を用い 2 倍量添加)、PAS 1, 10, 100  $\gamma$ /ml、INH 0.1, 1, 10  $\gamma$ /ml である。これに対照培地を加え 10 本 1 組とし、3 組を 1 人分

として用いる。培養後、薬剤なしの対照培地に原則として20~100集落を示す組で、対照培地の集落数の $\pm 50\%$ の集落数を示す最高濃度を完全耐性度とした。 $\pm 50\%$ の値をとつたのは、この方法の測定誤差が $P=0.05$ で約60%と計算されたからである<sup>8)</sup>。

### 実験成績および考察

上述の方法で得た結果のうち6例を例として図示した。これらの患者はすでにSM, PAS, INHの投与を数年にわたって受け、検査中も5者併用または6者併用を行なつたはじめの3カ月を除いて、ほとんど排菌数に著明な変化がなく、化学療法効果が著しく少ないと考えられた例である。検査結果はSM, PAS, INHに関するものであるが、SM投与量は1日1g 1週2日、PASは1日8g 毎日、INHは1日0.3g 毎日(全例同じ)である。5者または6者併用時の他薬剤の投与量は文献<sup>5)</sup>に記した。

#### 1. 「真の完全耐性度」と「routine法の完全耐性度」の比較

図に示すように、「routine法の完全耐性度」は、「真の完全耐性度」より1 order下の値を示すことがかなりの頻度で認められた。この現象はINHおよびPASに著明で、SMに著明でないが、これはSM耐性が頭打ちのものが多いためで、中間耐性の例ではSMでも認められる(図2)。

注：問題は「真の完全耐性度」と「routine法の完全耐性度」とどちらが病巣内の自然の状態に近いかということである。病巣の菌はかなり密集してはいるが、培養基上のように無制限に発育を示すことはない。したがって菌同志の発育干渉が起こるような密集したroutine法での発育は自然ではない。一方、分離集落で発育する状態も自然ではない。したがって、この点からは優劣を決めたい。いわゆる「真の完全耐性度」とつた意義は、検査から接種生菌数の影響という偶発的要素を除いたことにある。

#### 2. 「真の完全耐性度」の動揺

routine法の検査では耐性度の動揺が真の耐性度の動揺によるか、接種生菌数の動揺によるのか明らかでない。いわゆる「真の完全耐性度」では接種生菌数の影響が除外されているわけであるが、図に示すように、それでも相当の動揺が起こつた。

INHの使用中でもかかわらずINH耐性度の低下が起こつたことを報告する数編の論文があるが、われわれは永続的なINH耐性の低下を観察したことがない。実際、これらの報告では、routine法を用いて検査し、かつ検査回数も少ないので、単なるINH動揺の一断面をみていたのではなからうか。

本報の例は、いずれもINHが積極的な臨床的好転

をもたらさない例であり、かつ排菌菌数もINHにより著明な影響を受けていない例であるので、これらの動揺が、INH初回治療時にみられるごときpopulation changeの過程によるとは考えられない。この動揺は、おそらく菌排泄部位による耐性度の相違<sup>9)~11)</sup>か、または同一病巣でも耐性度の異なる菌が存在するというようなINH耐性菌またはPAS耐性菌(およびSM中間耐性菌)の本質的な性質に由来するものであろう<sup>12)</sup>。

#### 3. SM, PAS, INH耐性上限の個人差

##### (a) SM耐性の上限

SM耐性がほとんど無限大の高耐性に達することはすでに広く知られており、高耐性菌が持続的であることも周知のことである<sup>13)~19)</sup>。実際、本報でも全結核菌が高耐性菌であることが、「真の完全耐性度」の曲線からうかがわれる。

しかしまれには、本報の図2に示すように、過去に300gのSM投与を受けながら、有空洞、多量排菌の状態(1日排菌数 $10^7 \sim 10^8$ )で未だにSM中間耐性( $10 \sim 100 \gamma$ 耐性)にとどまつている例もある。

最近INHの有効濃度に個人差があることが注目されており、後述するようにINH耐性度の上限にも個人差があるが、SMに関しては通常は高耐性に達して個人差がないのが普通である。しかしまれには図2に示すように著しい差を示す例もあることが知られる。

##### (b) PAS耐性の上限

図示の患者は過去数年にわたってPAS投与を受け、PASによつて臨床好転を示さない例であるが、PAS耐性度は「真の完全耐性度」として表わしていても $1 \sim 10 \gamma/ml$ を動揺している。したがって、現行投与方法によるかぎり、この辺にPAS耐性の上限があるように思われる。なお、上限が $1 \gamma/ml$ のものと、 $10 \gamma/ml$ のものと2通りあると考えるか、 $1 \sim 10 \gamma/ml$ の中間くらいと考えるべきかであるが、図に示すように、各例とも $1 \sim 10 \gamma/ml$ を動揺しているので後者と考えたほうがよいと思われる。すなわち、PAS耐性の上限は $1 \sim 10 \gamma/ml$ 完全耐性の辺りにあつて、個人差は少ないと考えられる。

かつて結核予防法ではPAS  $100 \gamma/ml$ 完全耐性をもつて耐性限界としていたが、最近 $10 \gamma/ml$ に訂正された。routine法でのPAS耐性の臨床的境界としては最近、小酒井ら<sup>19)</sup>、勝沼ら<sup>20)</sup>はPAS  $1 \gamma/ml$ の線をあげている。この数値はpopulation分析からみたわれわれの成績からみてもおおそ妥当なところと思われる<sup>21)</sup>。しかし、PASのみならず抗結核剤の耐性上限は決して無効の境界を意味するものではない。耐性になつてもある程度の消極的な効果は期待できるのである<sup>22)</sup>。

##### (c) INH耐性の上限

図 1

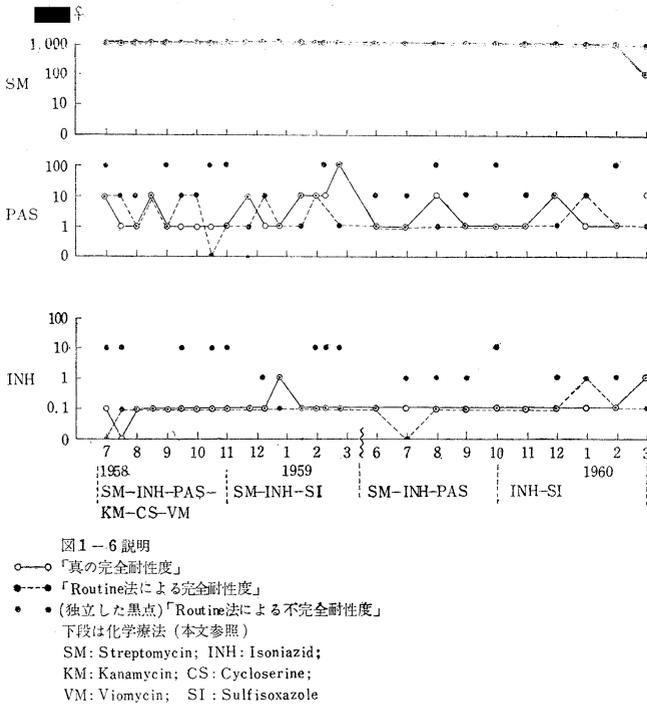
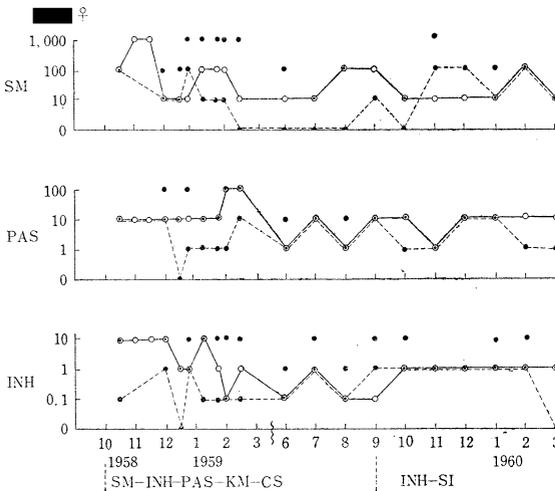


図1-6 説明

○—○ 「真の完全耐性度」  
 ●—● 「Routine法による完全耐性度」  
 ● (独立した黒点) 「Routine法による不完全耐性度」  
 下段は化学療法 (本文参照)  
 SM: Streptomycin; INH: Isoniazid;  
 KM: Kanamycin; CS: Cycloserine;  
 VM: Viomycin; SI: Sulfisoxazole

図 2



INH 耐性に関する結果はもつとも注目すべきものであった。図示の 6 例はいずれも過去数年にわたって INH 投与を受け、排菌が持続し、臨床的好転がほとんどなかった例であるが、その INH 耐性度 (「真の完全耐性度」からみた) は個人によつて異なっている。INH 投与量は前述のごとく、いずれも 1 日 0.3 g 毎日である。

図 1 の例はおおよそ 0.1  $\gamma/ml$  の耐性度が持続しているのに対し、図 2 および 5 の例では耐性度は 1  $\gamma/ml$

であり、図 3 および 6 では 10  $\gamma/ml$  である。これら 6 例とも同量の INH 投与を受けているのに、INH 耐性の上限は各個人により差が大きい。このような事実は、最近問題となつている INH 不活化の個人差<sup>23)~26)</sup> に関係しているのかもしれない。

Middlebrook ら<sup>25)</sup> は INH を投与しても INH 感性菌が持続するのは rapid inactivation と関係するだろうといつているが、この INH 感性菌という表現には必ずしも賛成しがたい。なぜなら彼らのいう INH 感性菌が INH 低耐性菌である可能性が除外されていないからである。しかし、INH 耐性上限の個人差と各個人の INH 不活化能とが関係していることは大いに可能性がありそうである。最近 Canetti ら<sup>27)</sup> は術前の INH 血中濃度と切除病巣の INH 耐性を調べて、両者が並行関係にあるといつていることは注目される。

結 論

1) 「routine 法の完全耐性度」は、population 構成を調べて得た「真の完全耐性度」より往々にして低い値を示すことがある。このような「routine 法の完全耐性度」と「真の完全耐性度」とのくい違いは、INH 耐性および PAS 耐性に多くみられるが、SM 中間耐性に関してもみられる。

2) 「routine 法の完全耐性度」は接種生菌数により影響されているが、この接種生菌数の影響を除いた「真の完全耐性度」でも、耐性患者の耐性度動揺は INH 耐性、PAS 耐性および SM 中間耐性のいずれについても認められる。

3) 同じ化学療法を有空洞、持続排菌の患者に長期間行なつて耐性菌排泄が持続する例で調べると、各個人が到達する「真の完全耐性度」の上限は薬剤および各個人により様相を異にする。SM では大部分が高耐性に達して差はないが、まれに長期投与ののちも中間耐性にとどまつて耐性度が上昇しにくい患者がある。PAS の耐性上昇はおおよそ 1~10  $\gamma/ml$  の付近で個人差が少ない。INH に関しては個人差が多く、0.1  $\gamma/ml$  耐性でそれ以上に上らぬ例から、1  $\gamma/ml$  耐性の例、さらに

図 3

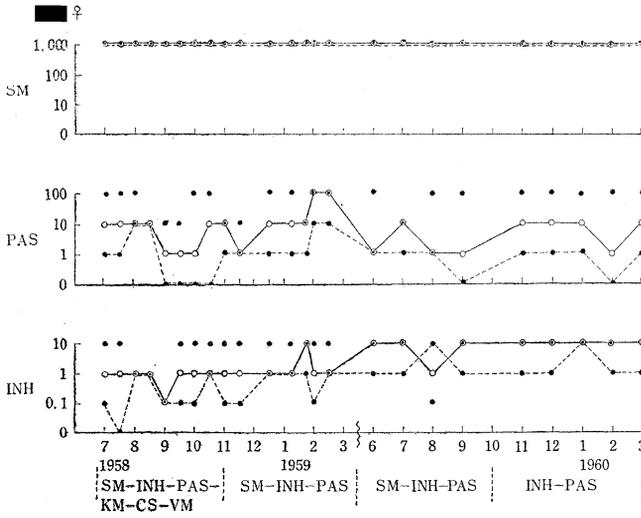


図 4

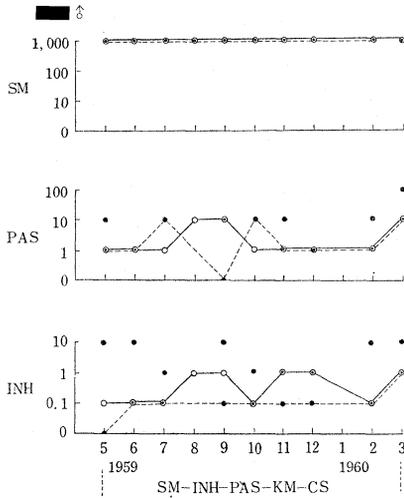


図 5

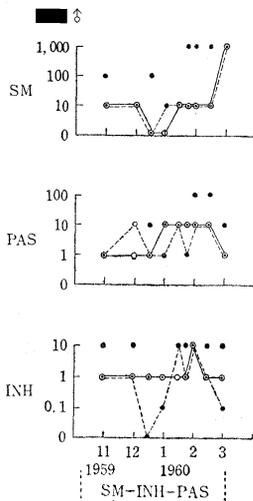
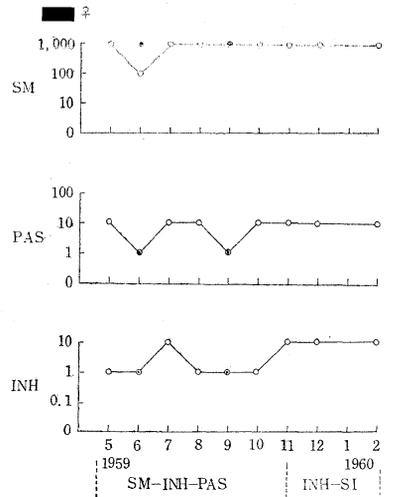


図 6



10  $\gamma/ml$  に達する例があつて、個人差が著明である。

御校閲を受けた勝沼六郎庄長ならびに日比野進教授に感謝の意を表する。また本実験は河西栄文、鬼頭義弘両氏の技術的協力による。

文 献

- 1) 東村・河西：Chemotherapy, 4: 227, 1956.
- 2) 内田：臨床病理, 4: 296, 昭31.
- 3) 佐藤：臨床病理, 4: 283, 昭31.
- 4) 林：名古屋医学, 78: 558, 昭34.
- 5) 東村・安保・勝沼：結核, 34: 625, 昭34.
- 6) 東村・野田・山本・林：医学と生物学, 47: 229, 昭33.
- 7) 東村・野田：結核, 32: 639, 昭32.
- 8) 東村・山本・林・中村：Chemotherapy, 6: 65, 1958.
- 9) Canetti, G., & Sáez, A.: Ann. Inst. Pasteur, 80: 238, 1951.
- 10) Stewart, S.M.: Am. Rev. Tuberc., 73: 390, 1956.
- 11) Turnbull, F.W.A., & Stewart, S.W.: Am. Rev. Tuberc., 73: 406, 1956.
- 12) 東村・三浦：Ann. Rep. Jap. Ass. Tuberc., 2: 1, 1957.
- 13) Youmans, G.P., Williston, E.H., Feldman, W.H., & Hinshaw, H.C.: Proc. Staff Meet., Mayo Clin., 21: 126, 1946.
- 14) Muschenheim, C., McDermott, W., Hadley, S.J., Hull-Smith, H., & Alice, T.: Ann. Int. Med., 27: 989, 1947.
- 15) Bernstein, S., D'Esopo, N.N., & Steenken,

- W. Jr. : *Am. Rev. Tuberc.*, 58 : 344, 1948.
- 16) Medical Research Council : *Brit. M. J.*, 2 : 769, 1948.
- 17) Dye, W.E. : *Am. Rev. Tuberc.*, 61 : 719, 1950.
- 18) Steinback, M. M., Leiner, G. C., Polachek, A.A., & Heller, P. : *Am. Rev. Tuberc.*, 61 : 868, 1950.
- 19) 国立病院耐性研究班 : 日本結核病学会報告, 昭32 ; 最新医学, 12 : 129, 昭32.
- 20) 国立療養所耐性研究班 : 国立病院療養所綜合医学会報告, 昭32 ; 医療, 14 : 154, 昭35.
- 21) 東村・林 : *Chemotherapy*, 7 : 106, 1959.
- 22) 東村 : 結研進歩, 27 : 185, 昭34.
- 23) Hughes, H.B., Schmidt, L.H., & Biehl, J.P. : *Tr. 14th Cof. Chem. Tuberc., Vet. Admin. Army and Navy*, p. 217, 1955.
- 24) Harris, H.W., Knight, R.A., & Selin, M.J. : *Am. Rev. Tuberc.*, 78 : 944, 1958.
- 25) Russell, W.F. Jr., & Middlebrook, G. : *Tr. 15th Cof. Chem. Tuberc., Vet. Admin. Army and Navy*, p. 274, 1956.
- 26) Morse, W.C., Rei, T.S., Roque, F.T., Christianson, C.S., & Tempel, C.W. : 日本結核病学会報告, 昭33.
- 27) Canetti, G., & Grosset, J. : *Rev. tuberc.*, 22 : 778, 1958.